植 物 分 类 与 资 源 学 报　2012, **34** (6): 607～613
Plant Diversity and Resources　　DOI: 10.3724/SP.J.1143.2012.12162

论中药分子鉴定的方法和原则*

袁庆军[1]，张文婧[1,2]，姜　丹[1,2]，张永清[2]，马超一[1]，黄璐琦[1**]
（1 中国中医科学院中药研究所，北京　100700；2 山东中医药大学药学院，山东 济南　250355）

摘要：中药的准确鉴定涉及到人民生命安全和切身利益。传统的鉴定方法，即感官评价、显微鉴定和理化鉴定均存在不同程度的局限性，而分子鉴定则为中药的快速和准确鉴定带来了新的契机。为了使中药的分子鉴定得到更加广泛和有效的应用，应该高度重视相关标准、规范的制订。本文提出了中药分子鉴定的一些主要方法：1）真伪品鉴定：特异聚合酶链式反应法；2）正品和替代品鉴定：DNA 条形码鉴定法；3）多基源鉴定：群体遗传学分析法；4）产地鉴别：分子谱系地理学分析法。经上述方法仍无法鉴别的贵重药材可进一步应用人类亲子鉴定的方法，开发特异微卫星标记进行进一步的鉴定。

关键词：中药；分子鉴定；真伪品；正品和替代品；多基源；产地鉴别
中图分类号：Q 948.2，Q 942　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：2095-0845(2012)06-607-07

On the Methods and Principles of Molecular Identification of Chinese Herbs

YUAN Qing-Jun[1], ZHANG Wen-Jing[1,2], JIANG Dan[1,2], ZHANG Yong-Qing[2], MA Chao-Yi[1], HUANG Lu-Qi[1**]
(1 *Institute of Chinese Materia Medica*, *China Academy of Chinese Medicinal Sciences*, Beijing 100700, China;
2 *College of Pharmacy*, *Shandong University of Traditional Chinese Medicine*, Jinan 250355, China)

Abstract: Accurate identification of herbal medicinal materials is relevant to the safety of human life and economic interests. Traditional identification methods, including sensory evaluation, microscopic identification, physical and chemical identification, all have their limitations. Molecular identification brings a new opportunity for accurate identification of herbal medicinal materials. However, prior to its wide adoption, the methods and principles of molecular identification should be fully discussed. In this paper, we proposed a set of new methods for molecular authentication of herbal medicinal materials: 1) Identification between authenticity and adulteration by using specific polymerase chain reaction; 2) Identification between official herb and substitute by using the method of DNA barcoding; 3) Identification among multiple species of one official herbs by constructing genealogy among closely-related species based on population genetics; 4) Identification among herbs of different geographical origins by phylogeography-based analysis. For those that can not be identified by above four methods, more rapidly evolved markers such as microsatellite should be employed and individual-based analysis could be adopted.

Key words: Herbal medicines; Molecular identification; Authenticity and adulteration; Official herb and substitute; Multiple species origin; Different regional origins

---

* 基金项目：国家科技部科技基础工作专项项目；国家高科技研究发展计划（863 计划）（2012AA021801）；中国科学院大科学装置开放研究项目（2009-LSFGBOWS-01）；国家自然科学基金重点项目（81130070）；中国中医科学院中药研究所基本科研业务费自主选题项目（2011ADXK-01）
** 通讯联系人：黄璐琦，研究员，主要从事分子生药学、中药资源和道地药材形成机制等研究。E-mail：huangluqi@263.net
收稿日期：2012-11-20，2012-11-28 接受发表
作者简介：袁庆军（1964-）女，博士，副研究员，主要从事分子谱系地理学、中药分子鉴定和道地药材遗传基础等研究。
E-mail：yuanqingjun@icmm.ac.cn

中医是我国特有的、历史悠久的传统医学，在我国人民的健康生活中发挥了不可替代的重要作用。据世界卫生组织估计，世界上80%的人口依靠中医药作为主要的卫生保健需要（World Health Organization，2008）。中医药自诞生之初就离不开中药鉴定。“神农尝百草之滋味，一日而遇七十余毒”反映了原始的中药鉴定方法和古人为鉴别安全有效的中药而付出的艰辛和努力。中药鉴定直接关系到人的生命安全，在香港发生过误用毒性中药鬼臼（桃儿七）（*Podophyllum hexandrum*）为龙胆草（*Gentiana rigescens*）和威灵仙类（*Clematis*）而发生的神经中毒事件（But等，1996）以及误用有毒的抗胆碱药物洋金花（*Datura metel*）为凌霄花（*Campsis grandiflora*）的中毒事故（But，1994）。在比利时曾报道因汉防己（*Stephania tetradra*）被误用为广防己（*Aristolochia fangchi*）而导致许多肾脏中毒的事故（Vanherweghem等，1993；Vanhaelen等，1994）。因此，中药鉴定比普通生物学的物种鉴定要求有更高的准确性和可靠性。同时，中药涉及重大的经济利益，2005年中国中药年总收入达到140亿美元，2004年在西欧达到50亿美元（World Health Organization，2008）。巨大经济利益的诱惑导致中药存在严重的掺伪制伪现象，使中药鉴定比一般生物学的物种鉴定具有更高的复杂性。

从《神农本草经》到《本草纲目》，再到2010年版的《中华人民共和国药典》，中药鉴定主要经历了由表及里、由浅入深的4个主要发展阶段：感官评价、显微鉴定、理化鉴定和分子鉴定。

感官评价 即观其形、视其色、闻其气、尝其味、触其质、听其声的鉴定方法，需由经验丰富的专业人员方能作出较正确的评价，故又称经验鉴别。其优点是直观快速、实用性强、有一定的准确性，时至今日也不失为中药材的一种常用鉴定方法，是现行药典的主要评价标准。感官评价的不足之处是只能作定性描述、主观性强，难以被没有药材鉴别经验的人掌握利用。

显微鉴定 是根据中药的细胞或组织的显微特征进行药材鉴别的方法。1865年德国学者最先开始利用显微镜鉴别植物药，目前仍然是中药鉴定的一种主要方法。由于组织特征的相似性，显微解剖特征难以解决近缘种药材的鉴定问题，同时组织结构易受地理环境、生长期、储存条件诸多因素的影响，从而影响到鉴定的准确性。同样，显微鉴定也需要经验丰富的专业人员才能掌握和使用。

理化鉴定 是20世纪发展起来的利用化学方法和仪器分析而建立的以测定某单一化学成分为目标的分析方法，是现行药典既定性又定量的质量标准，并以定量为主要特征。由于中药大多数有效成分不明确，且并非单一成分，变异幅度大，同时其含量受采收时间等诸多因素影响，因此难以规定一个合理的数值标准，所以药典中尚有许多药材无定量指标，31%的药材无理化鉴别指标（国家药典委员会，2010）。

分子鉴定 是指通过直接分析遗传物质DNA的多态性来推断物种内在的遗传变异而实现药材鉴别的方法。DNA分子信息量大，且不受外界因素和生物体发育阶段及器官组织差异的影响，准确性高、客观性强。分子鉴定经历了RAPD、ISSR、RFLP、AFLP、DNA序列分析等发展阶段，2010版药典已将蕲蛇和乌梢蛇的分子鉴定正式作为评价指标（国家药典委员会，2010）。近年来迅速发展的DNA条形码使中药的分子鉴定具有更好的通用性、重复性和可比性。

1 中药分子鉴定的发展和存在的问题

随着分子生物技术的迅速发展，在上世纪末和本世纪初中药鉴定逐渐进入分子水平。香港中文大学邵鹏柱等（2004）主编的《中药分子鉴定》较早系统介绍了中药分子鉴定的原理和方法，并与国家中药现代化工程技术研究中心“CUHK-NERC中药标准化及研发联合实验室”合作开展了一系列卓有成效的分子鉴定工作。黄璐琦（2000）主编的《分子生药学》将分子生物学与中药资源研究有机地结合，并在中药分子鉴定方面开展了深入的研究。该课题组应用Cyt *b*序列对蕲蛇和乌梢蛇设计特异引物进行PCR扩增鉴别，同时将该方法首次正式写入2010版药典（国家药典委员会，2010），并研制了相应的鉴别试剂盒供中药质检部门使用。随着DNA条形码在国内外生物物种鉴定研究中的兴起和迅速发展（Kress和Erickson，2007；Chase等，2007；

CBOL Plant Working Group, 2009；Li 等, 2011），应用 DNA 条形码进行中药分子鉴定的研究也日益受到学者的重视，发展迅速（Chen 等, 2010；Yao 等, 2010；陈士林, 2012）。

肖小河等（2009）在关于道地药材分子鉴定时指出，目前 DNA 分子遗传标记技术在道地药材鉴定中受到两个方面的局限：一是来自技术本身的，如目标基因的真实性与 DNA 同源性，DNA 分子标记结果的重现性和稳定性；二是来自研究对象的，不是所有的道地药材形成都会留下 DNA 差异‘烙印’，同时这种 DNA 差异也不见得与道地性的形成有直接或内在的相关。这两方面的局限虽然是针对道地药材的分子鉴定，但也代表了中药分子鉴定的两个普遍问题：一是所选择的分子标记或 DNA 片段是否能真实反映所鉴定中药的遗传本质，二是所鉴定的中药基源植物在 DNA 的分化上是否确实存在明显的种间差异，即 DNA 差异“烙印”。随着分子系统学研究的深入和 DNA 条形码技术的广泛应用，第一个问题基本得到解决，但第二个问题仍然困扰着中药的分子鉴定。

物种间 DNA 分化存在明显间断是成功实现分子鉴定的前提，其存在与否取决于物种的进化历史。根据溯祖理论，物种形成的方式之一是经历由多系群（polyphyly）进化为并系群（paraphyly）最终形成单系群（reciprocal monophyly）的谱系分选过程（Futuyma, 1997），只有实现了完全谱系分选的两个物种才存在明显的遗传间断。同时，杂交和多倍化是被子植物进化的又一重要机制（Arnold, 1997）。Fazekas 等（2009）总结了存在天然杂交的 12 属植物比没有杂交的植物具有显著低的遗传分化，认为杂交可能是影响植物难以成功实现分子鉴别的重要因素。

准确的物种分子鉴定，是用已知物种的分子序列与未知样品序列进行比较从而判断其归属的过程，这就要求首先构建一个充分体现种内变异和种间分化的完整的参考序列数据库（Meyer 和 Paulay, 2005）。然而，目前应用 DNA 条形码进行物种鉴定研究中的种间遗传间断往往基于不完全的种内变异（许多种的实际取样为 1 ~ 2 个个体）和种间分化（不完全的或地理局限的物种取样）(Hebert 等, 2003, 2004；Barrett 和 Hebert, 2005)，这种不完全的取样在应用 DNA 条形码进行的中药分子鉴定中表现得尤其突出。由于仅限于药用物种和来自更少居群的个体，这就难以客观反映种间的遗传间断，影响中药分子鉴定的可靠性和准确性。中药分子鉴定的另一个特点是大多数药材来自栽培，部分药材也有野生，由于异地引种和发达的商业贸易，人为改变了居群间、种间的基因流，使存在天然杂交的药用植物的杂交程度进一步增强，在栽培药用植物中出现了明显的种质混杂（Yuan 等, 2010），这就使中药分子鉴定更加复杂和困难。因此，中药分子鉴定必须要有基于分子系统学、DNA 条形码和群体遗传学研究的鉴定方法和规范。

2 中药分子鉴定的方法和规范

中药鉴定依据所鉴定对象亲缘关系的远近大致可分为 4 类：真伪品鉴定、正品与替代品鉴定、多基源鉴定和产地鉴别，每一类鉴定对象的遗传间断存在逐渐减小的趋势，因此对每一类鉴定所采取的方法和规范应有所不同。

2.1 真伪品鉴定——特异聚合酶链式反应法

真伪品鉴定是指对形态上相似但亲缘关系较远（不同科属或更远）的真品和混伪品的鉴定，如蕲蛇（*Agkistrodon acutus*）的混伪品主要为百花锦蛇（*Elaphe moellendorffi*）、眼镜蛇（*Naja naja*）、金环蛇（*Bungarus fasciatus*）、银环蛇（*Bungarus multicinctus*）和滑鼠蛇（*Ptyas mucosus*）；檀香（*Santalum album*）的混伪品主要为侧柏（*Platycladus orientalis*）、刺槐（*Robinia pseudoacacia*）、降香（*Dalbergia odorifera*）、苏木（*Caesalpinia sappan*）和白木香（*Aquilaria sinensis*）。这一类鉴定，由于鉴定对象的亲缘关系较远，DNA 序列的差异较大，遗传间断无疑非常明显，只需对需要鉴别的真伪品选取少数个体，约 1 ~ 3 个，用合适的 DNA 片段，动物样品可用 Cyt *b* 和 *COI*，植物样品可用 *trn*H-*psb*A 和 ITS 或 ITS2，获取样品的序列。根据真伪品序列差异较大的区段设计真品的特异性引物，检验设计的引物能对真品实现特异性扩增后可开发成试剂盒，在中药鉴定的实际工作中可用特异引物对需鉴定的样品直接 PCR 检测特异条带的有无判断真伪，不需要测序和序列分析即可进行鉴定。该方法即

为2010版药典中蕲蛇和乌梢蛇的分子鉴定方法（国家药典委员会，2010），可进一步推广到其它药材真伪品的分子鉴定。

2.2 正品与替代品鉴定——DNA条形码鉴定法

正品是指药典正式记载的药材，替代品是指与正品亲缘关系较近且药效相似但药典没有记载的药材，替代品多是一些地方习用品，民间用以代替正品药材使用，如黄芩（*Scutellaria baicalensis*）是正品，替代品有滇黄芩（*S. amoena*）、甘肃黄芩（*S. rehderiana*）、粘毛黄芩（*S. viscidula*）和丽江黄芩（*S. likiangensis*）；当归属（*Angelica* L.）的当归（*A. sinensis*）、独活（*A. biserrata*）和白芷(*A. dahurica*）是正品，当归替代品有东当归（*A. acutiloba*）、青海当归（*A. nitida*）、朝鲜当归（*A. gigas*）和欧当归（*Levisticum officinale*）；独活替代品有狭叶当归（*A. anomala*）、雾灵当归（*A. porphyrocaulis*）和欧当归（*Levisticum officinale*）；白芷替代品有拐芹（*A. polymorpha*）。正品和替代品药材虽然具有相似的药效，但品质存在较大差异，准确的物种鉴定是药材质量控制的保障。正品和替代品中药的遗传间断相对于不同科属的真伪品会更小，如果没有正品和替代品所在属完全物种取样构建的参考序列数据库，而仅仅是对药用物种进行序列比对或构建系统树来判断种间遗传间断的大小和单系性，难以保证较高的准确性。因此，对于这一类分子鉴定，正品和替代品所在属完全的物种取样是必需的，包括药用和非药用的种。该鉴定采用DNA条形码鉴定法，分两步进行：

① 根据高连明等（2012）提出的植物DNA条形码研究技术规范和标准，在对正品和替代品药材基源植物所在属完全物种取样的基础上进行DNA条形码鉴定分析，构建系统树，判断正品和替代品药材基源植物种间遗传间断的大小，只有当正品与替代品及非药用种在进化树上分别为单系时，才有可能成功实现分子鉴定。

② 获取待鉴定中药的DNA条形码序列，并与已构建的系统树进行比对，判断待鉴定中药是否与正品或替代品基源植物或非药用物种聚为相同或相近的进化支，从而判断所鉴定药材为正品或替代品或非药用物种。

作者应用中国植物条形码研究组推荐的4个DNA条形码候选片断 *mat*K，*rbc*L，*trn*H-*psb*A和ITS对当归属药用植物和药材进行了DNA条形码分子鉴定研究。结果表明，当归属25种植物有19种能成功地进行分子鉴定，存在着明显的种间遗传间断，3种正品药材和它们的替代品药材在进化树上均互为单系，在此基础上对市售的三种正品药材进行了10个地点的抽样调查，发现德州的当归和独活中均混有替代品欧当归，滨州的独活也混有同样的替代品，欧当归虽然不是当归属植物，但它是当归的姐妹种，因为当归属不是一个单系起源的属（Feng等，2009）。欧当归是在1957年我国由于当归资源紧缺，从欧洲引种以代替当归使用的替代品，但由于其药理药效不如当归，目前已少有种植。不过，从我们的结果可以看出，在正品当归和独活中仍混有这种替代品，表明DNA条形码鉴定法对正品和替代品的鉴定是准确有效的（张彬，2012）。

2.3 多基源鉴定——群体遗传学分析法

多基源是指某些中药来源于多种近缘的基源植物，而每种基源植物均为药典记载的正品，如黄连有3种正品基源植物：黄连（*Coptis chinensis*）、三角叶黄连（*Coptis deltoidea*）和云南黄连（*Coptis teeta*）；秦艽有4种正品基源植物：秦艽（*Gentiana macrophylla*）、麻花秦艽（*Gentiana straminea*）、粗茎秦艽（*Gentiana crassicaulis*）和小秦艽（*Gentiana dahurica*）。多基源中药具有完全相同的药理药效，有效成份的组成和含量非常接近，但药材质量和价格存在一定差异，在更为严格的药材质量控制中需要对多基源药材进行准确的物种鉴定。多基源物种间比正品和替代品物种间具有更近的亲缘关系，很可能存在天然或人为引起的杂交，种间的遗传间断进一步缩小或完全消失。因此，这类中药鉴定在保证多基源植物所在属完全物种取样的前提下，对较小的属（10个种以下）应对所有种进行充分的居群和个体取样，对较大的属可对多基源物种及近缘种进行充分的居群和个体取样，在分子实验过程中，对不能直接测序的个体要进行克隆测序，在此基础上进行群体遗传学分析，才能有效评估种间分化的大小和种内变异的幅度，由此对多基源中药能否进行分子鉴定作出准确判断。

我们对黄连属进行了充分物种、居群和个体

采样，除五叶黄连（*Coptis quinquefolia*）仅采 1 个居群（10 个个体）外，三种黄连基源种和峨眉黄连（*Coptis omeiensis*）及短萼黄连（*Coptis chinensis* var. *brevisepala*）每个种或变种均采集 4 ~7 个居群，每个居群均在 5 个个体以上，应用中国植物条形码研究组推荐的 4 个 DNA 条形码候选片断 *mat*K，*rbc*L，*trn*H-*psb*A 和 ITS 进行 PCR 扩增和测序，三个叶绿体 DNA 片段的测序成功率均在 90% 以上，ITS 只有 60% ，对不能直接测序的个体进一步做克隆测序，在此基础上进行群体遗传学分析以评价 4 个 DNA 条形码片段对黄连 3 个基源植物的鉴别能力，结果表明云南黄连是一个明显独立进化的单系，有着显著分化的特异单倍型，可以成功进行分子鉴定；而黄连和三角叶黄连存在着天然杂交和致同进化不完全，长期的人工栽培使其杂交和致同进化不完全的程度进一步加强。因此，黄连和三角叶黄连之间 4 个 DNA 条形码片段均没有遗传间断，即没有 DNA 差异的“烙印”，无法实现分子鉴别。由此可见，DNA 条形码对长期栽培的黄连的两种基源植物黄连和三角叶黄连的分子鉴别是无效的（刘晓光，2012）。

2.4　产地鉴别——分子谱系地理学分析法

产地鉴别是指对不同产地的同一种药材进行鉴别，不同产地的同一种药材在品质上存在差异，这就形成了中药质量评价的一个重要经验指标——道地药材。道地药材的生物学本质是同种异地，即同一物种因其具有一定的空间结构，能在不同的地点上形成大大小小的群体单元，如果其中某一群体单元产生质优效佳的药材，即为道地药材（黄璐琦和张瑞贤，1997）。同一物种在不同地点上形成的群体单元，实际上就是生物学上的居群。道地药材的鉴别是目前中药鉴别的一大难题，没有一个标准的鉴定评价体系，传统的鉴定方法无法勾划出道地药材的轮廓。DNA 条形码主要适用于物种水平的鉴定和分子系统学研究，也难以阐明种下居群水平的遗传分化。谱系地理学（phylogeography）是 Avise 等（1987，1996）提出的对种内居群扩散、迁移等微观进化历史进行有效推测的新概念。分子谱系地理学基于溯祖理论的原理，应用嵌套分支分析的统计分析技术（Excoffier 和 Smouse，1994；Templeton，1998），能够把单倍型网状进化树提供的遗传分化的时间尺度用于分析目前单倍型遗传变异的空间分布，并能将影响居群遗传分化的现代因素（如基因流）和历史性事件（如片断化、快速扩展和拓殖现象等）区分开来，使之成为研究居群进化历史和遗传分化的最新理论和方法（Schaal 等，1998；Avise，2000）。植物的叶绿体 DNA（cpDNA）在大多数被子植物中为母系遗传，反映了居群间种子流的大小，比核基因更能显示居群间的地理分化和历史变迁的地理印迹。因此，叶绿体 DNA 愈来愈多地被用来重建植物居群的谱系地理模式（Chiang 和 Schaal，1999；Petit 等，2003）。将分子谱系地理学用于道地药材的遗传成因和分子鉴定研究，将会有效推进中药的产地鉴别（袁庆军等，2009）。

作者检测了 4 个 DNA 条形码片段 *mat*K，*rbc*L，*trn*H-*psb*A 和 ITS 对不同产地白芷药材的鉴别能力，选取 4 个传统产地的白芷：遂宁（川白芷）、合肥（杭白芷）、安国（祁白芷）和禹州（禹白芷）各 2 ~4 个个体，获取它们的 4 个 DNA 条形码片段的序列，并与上述已构建的当归属系统树进行比对。结果表明，4 个产地白芷的序列完全相同，并与白芷原植物聚为一支，说明 4 个 DNA 条形码片段对白芷药材的产地鉴别是无效的（张彬，2012）。

我们应用分子谱系地理学分析法对黄芩进行栽培起源的研究表明，黄芩野生居群存在明显的谱系地理结构，其道地药材——“热河黄芩”（热河即现在河北承德一带）位于网状进化树的中心，为原始的进化分支，由此分化出非道地的东北和西北进化支，表明野生的道地和非道地居群间存在明显的遗传分化，野生黄芩可以实现产地的分子鉴别。然而，野生居群的这种谱系地理结构在栽培居群中完全消失，栽培的道地居群和非道地居群具有基本相同的遗传组成，栽培过程引起了居群间遗传的均质化。因此，栽培的道地居群和非道地居群间没有遗传差异，不能实现产地的分子鉴别（Yuan 等，2010；张彬等，2012）。

3　展望

中药鉴定已经进入分子时代，DNA 条形码极大地促进了中药分子鉴定的发展。中药鉴定的特

殊性和复杂性，使中药分子鉴定任重而道远，既要反对分子鉴定无用的保守思想，又要防止分子鉴定万能的盲目乐观倾向。要确保中药分子鉴定的准确性和可靠性，离不开对其基源植物进化历史的深入研究，这是中药分子鉴定的一个薄弱环节。解决的办法是促进学科的交叉研究，例如与中国科学院昆明植物研究所、中国科学院植物研究所等单位开展有效合作，举全国中药鉴定研究人员之力，以第4次中药资源谱查为契机，有条不紊地对每一味中药能否进行分子鉴定做出系统评价。对能进行分子鉴定的中药制定出鉴定标准，对不能进行分子鉴定的中药阐明原因，对那些用上述原则判断无法进行分子鉴定而又急需准确快速鉴别的贵重药材，可进一步采用人类亲子鉴定的方法开发特异的微卫星引物，用以进行更精准的分子鉴定。我们有理由相信，一个科学准确的中药分子鉴定体系在不久的将来将会逐步建立。

致谢 感谢李德铢研究员和张志勇教授对文章的修改和进行的有益讨论以及两位审稿专家提出的宝贵意见。

〔参 考 文 献〕

陈士林, 2012. 中药DNA条形码分子鉴定［M］. 北京: 人民卫生出版社

国家药典委员会, 2010. 中华人民共和国药典［M］. 北京: 中国医药科技出版社, 72, 349

黄璐琦, 2000. 分子生药学［M］. 北京: 北京大学医学出版社

刘晓光, 2012. 基于群体遗传学的黄连属DNA条形码研究［D］.［学位论文］. 北京: 中国中医科学院中药研究所, 济南: 山东中医药大学

邵鹏柱, 曹晖, 王骏等, 2004. 中药分子鉴定［M］. 上海: 复旦大学出版社

张彬, 2012. 当归属药用植物及药材的DNA条形码鉴别研究——兼论DNA条形码在中药材鉴定中的原则研究［D］.［学位论文］. 北京: 中国中医科学院中药研究所

Arnold M, 1997. *Natural Hybridization and Evolution*［M］. Oxford: Oxford University Press

Avise JC, Arnold J, Ball Jr. RM *et al.*, 1987. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics［J］. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**: 489—522

Avise JC, 1996. Space and time as axes in intraspecific phylogeography［A］. In: Huntley B, Cramer W, Morgan AV *et al.* (eds.), *Past and Future Rapid Environmental Change: The Spatial and Evolutionary Responses of Terrestrial Biota*［M］. New York: Springer-Verlag, 381—388

Avise JC, 2000. *Phylogeography: The History and Formation of Species*［M］. Cambridge, Massachuseets, London, England: Harvard University Press

Barrett RDH, Hebert PDN, 2005. Identifying spiders through DNA barcodes［J］. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, **83**: 481—491

But PPH, 1994. Herbal poisoning caused by adulterants or erroneous substitutes［J］. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **97**: 371—374

But PPH, Tomlinson B, Cheung KO *et al.*, 1996. Adulerants of herbal products can cause poisoning［J］. *British Medical Journal*, **313**: 117

CBOL Plant Working Group, 2009. A DNA barcode for land plants［J］. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**: 12794—12797

Chase MW, Cowan RS, Hollingsworth PM *et al.*, 2007. A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants［J］. *Taxon*, **56**: 295—299

Chen SL, Yao H, Han JP *et al.*, 2010. Validation of the ITS2 region as a nowel DNA barcode for identifying medicinal plant species［J］. *PloS One*, **5**: e8613

Chiang TY, Schaal BA, 1999, Phylogeography of North American populations of the moss species *Hylocomium splendens* based on the nucleotide sequence of internal transcribed spacer 2 of nuclear ribosomal DNA［J］. *Molecular Ecology*, **8**: 1037—1042

Excoffier L, Smouse PE, 1994. Using alleles frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene trees within a species: molecular variance parsimony［J］. *Genetics*, **136**: 343—359

Fazekas AJ, Kesanakurti PR, Burgess KS *et al.*, 2009. Are plant species inherently harder to discriminate than animal species using DNA barcoding markers?［J］. *Molecular Ecology Resources*, **9**: 130—139

Feng T, Downie SR, Yan Y *et al.*, 2009. Molecular systematics of Angelica and allied genera (Apiaceae) from the Hengduan Mountains of China based on nrDNA ITS sequences: phylogenetic affinities and biogeographic implications［J］. *Journal of Plant Research*, **122**: 403—414

Futuyma DJ, 1997. *Evolutionary Biology*［M］. Massachusetts: Inc. Sunderland

Gao LM (高连明), Liu J (刘杰), Cai J (蔡杰) *et al.*, 2012. A synopsis of technical notes on the standards for plant DNA barcoding［J］. *Plant Diversity and Resources* (植物分类与资源学报), **34** (6): 592—606

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL *et al.*, 2003. Biological identifications through DNA barcodes［J］. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, **270**: 313—321

Hebert PDN, Stoeckle MY, Zemlak TS *et al.*, 2004. Identification of birds through DNA barcodes［J］. *PLoS Biology*, **2**: e312

Huang LQ (黄璐琦), Zhang RX (张瑞贤), 1997. Discussion on

the biology of geoherbs [J]. *Chinese Pharmaceutical Journal* (中国药学杂志), **32** (9): 563

Kress WJ, Erickson DL, 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *rbc*L gene complements the noncoding *trn*H-*psb*A spacer region [J]. *PLoS One*, **2**: e508

Li DZ, Gao LM, Li HT *et al.*, 2011. Comparative analysis of a large dataset indicates that ITS shoud be incorporated into the core barcode for seed plants [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108** (49): 19641—19646

Meyer CP, Paulay G, 2005. DNA barcoding: rrror rates based on comprehensive sampling [J]. *PLoS Biology*, **3** (12): 2229—2238

Petit RJ *et al.*, 2003. Glacial refugia: hotspots but not melting post of genetic diversity [J]. *Science*, **300**: 1563—1565

Schaal BA, Hayworth DA, Olsen KM *et al.*, 1998. Phylogeographic studies in plants: problems and prospects [J]. *Molecular Ecology*, **7**: 465—475

Templeton AR, 1998. Nested clade analyses of phylogeographic data: testing hypotheses about gene flow and population history [J]. *Molecular Ecology*, **7**: 381—397

Vanhaelen M, Vanhaelen-Fastre R, But PPH *et al.*, 1994. Indentification of aristolochic acid in Chinese herbs [J]. *Lancet*, **343**: 174

Vanherweghem JL, Delielreux M, Tielemans C *et al.*, 1993. Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: Association with slimming regimen including Chinese herbs [J]. *Lancet*, **341**: 387—391

World Health Organization, 2008. Traditional Medicine. Fact Sheet N134. Geneva: World Health Organization

Xiao XH (肖小河), Chen SL (陈士林), Huang LQ (黄璐琦) *et al.*, 2009. Survey of investigations on Daodi Chinese medicinal materials in China since 1980s [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica* (中国中药杂志), **34** (5): 519

Yao H, Song JY, Liu C *et al.*, 2010. Use of ITS2 region as the universal DNA barcode for plants and animals [J]. *PloS One*, **5** (10): e13102

Yuan QJ (袁庆军), Huang LQ (黄璐琦), Guo LP (郭兰萍) *et al.*, 2009. Prospect of application of molecular phylogeography in study of geoherbs [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica* (中国中药杂志), **34** (16): 2007—2011

Yuan QJ, Zhang ZY, Hu J *et al.*, 2010. Impacts of recent cultivation on genetic diversity pattern of a medicinal plant, *Scutellaria baicalensis* (Lamiaceae) [J]. *BMC Genetics*, **11**: 29

Zhang B (张彬), Yuan QJ (袁庆军), Huang LQ (黄璐琦) *et al.*, 2012, Locality identification of Chinese medicinal plant *Scutellaria baicalensis* (Lamiaceae) population-level DNA barcoding [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica* (中国中药杂志), **37** (8): 1100—1106